

<p>86-172175/27 B04 NIPPON KAYAKU KK (YAMS) NIPK 27.10.84 27.10.84-JP-226038 (22.05.86) A61k-09/08 A61k-31/73 Interferon-inducing injections prepn. - by blending poly:riboinosinic acid-poly ribocytidylc acid aq. soln. and poly-L-lysine and heating C86-073962</p>	<p>*J6 1103-824-A B(4-B4A1, 12-A6, 12-G7) 3</p>
<p>Full Patentees: Nippon Kayaku KK; Yamasa Shoyu KK Prepn. of poly-riboinosinic acid/poly-ribocytidylc acid/poly-L-lysine complex (poly(ICL))-contg. injection comprises blending an aq. soln. of poly-riboinosinic acid/poly-ribocytidylc acid (poly(I)/poly-(C)) with poly-L-lysine and then heating the resulting mixt. to sterilize.</p> <p>USE/ADVANTAGE Poly(ICL) is effective as an interferon-inducer and is expected to be useful as carcinostatic. It is highly transparent and is stable and may be obtd. simply by blending the components.</p> <p>COMPOSITION The molar ratio of poly(I) to poly(C) is 0.8-2/1, pref. 1/1. A powdery poly-L-lysine is directly blended with the poly</p>	<p>(I)/poly(C)-aq. soln., of the poly-L-lysine is first dissolved in water, and the resulting aq. soln. is blended with the poly (I)/poly(C)-soln. In the latter case, the poly-L-lysine aq. soln. to be added pref. has a concn. of 0.2-2.0 mg/ml. The ratio of poly(I)/poly(C) to poly-L-lysine is 1/0.3-1.0 pref. 1/0.5-0.7, which is a molar ratio of the phosphate in the former to the amino gp. in the latter.</p> <p>EXAMPLE 2.0 mg/ml of aq. soln. of poly(I)/poly(C)-sodium salt was prepnd. 1.0 mg/ml of aq. soln. of poly-lysine-HBr was prepnd. These were blended in a ratio of 5/3.7 by volume, and the resulting poly(ICL)-aq. soln. was heated at 80°C for 30 mins. while gradually stirred. After the heat-treatment, the soln. was filtered with a membrane-filter of 0.45 μ and put in a glass container and sealed. The RNase-resistance of the poly(ICL) did not lower after the heat-treatment.(5pp W9AFDwgNo0/2).</p>

J61103824-A

© 1986 DERWENT PUBLICATIONS LTD.
128, Theobalds Road, London WC1X 8RP, England
US Office: Derwent Inc. Suite 500, 6845 Elm St. McLean, VA 22101
Unauthorised copying of this abstract not permitted.

③Int.CI.
A 61 K 9/08
31/73

識別記号

序内整理番号

6742-4C
7252-4C

④公開 昭和61年(1986)5月22日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑤発明の名称 ポリリボイノシン酸・ポリリボシチデル酸・ポリ-L-リジン複合
体の注射用製剤の新規調製法

⑥特願 昭59-226038

⑦出願 昭59(1984)10月27日

⑧発明者 大熊高明 東京都中野区沼袋2-1-10
鈴木信太郎 東京都大田区南千束3-7-10
町田治彦 銚子市栄町2-2-2
日本化薬株式会社 東京都千代田区丸の内1丁目2番1号
ヤマサ醤油株式会社 銚子市新生町2丁目10番地の1
弁理士 竹田和彦

明細書

1. 発明の名称

ポリ(エコラ)注射用調製の新規調製法。

2. 特許請求の範囲

ポリリボイノシン酸・ポリリボシチデル酸^{の水溶}に
ポリ-L-リジンを混合した後加熱処理すること
を特徴とするポリリボイノシン酸・ポリリボシチ
デル酸・ポリ-L-リジンの複合体注射用調製の
新規調製法。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、インターフェロン誘発物質のポリリ
ボイノシン酸・ポリリボシチデル酸・ポリ-L-リ
ジン複合体(以下ポリ(エコラ)といふ。)の
注射用調製を調製する新規な方法に関するもの
である。

〔従来技術〕

ポリリボイノシン酸・ポリリボシチデル酸(以下
ポリ(イ)・ポリ(ニ)といふ)はインターフ

エロン(以下エコラといふ)の誘発物質としてよ
く知られている。しかしながら、ポリ(イ)・ポ
リ(ニ)はヒトなどの腫瘍ではそのエコラ誘発
活性が低いと報告されている。この原因は、腫
瘍では血中のリボヌクレアーゼ活性が高く、ポリ
(イ)・ポリ(ニ)が投与された後直ちにこの酵
素によつて分解されるためであるといわれている。
ポリ(イ)・ポリ(ニ)の核酸分解酵素によるテ
解を防止するために、いくつかのポリ(イ)・ポ
リ(ニ)の塩基生物質との複合体が開発されて
きた。ポリ(エコラ)もその一つである。ポリ(エ
コラ)はヒトおよびサルで強力をエコラ誘発性
が報告されており、またエコラがいくつかの腫瘍
に対して抗腫瘍効果を示すことが報告されてい
ることから、ポリ(エコラ)の創がん剤としての用
途も期待されている。

ポリ(エコラ)はポリスクリオテドとポリベブ
テドの複合体でありポリスクリオテドとポリベブ
テドの混合時、不溶性の沈殿を生じやすいため、
従来常温で長時間をかけて混合する製造法が行わ

③Int.Cl.
A 61 K 9/08
31/73

識別記号 厅内整理番号

5742-4C
7252-4C

④公開 昭和61年(1986)5月22日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑤発明の名称 ポリリボイノシン酸・ポリリボシチデル酸・ポリ-L-リジン複合
体の注射用製剤の新規調製法

⑥特願 昭59-226038
⑦出願 昭59(1984)10月27日

⑧発明者 大熊 高明	東京都中野区沼袋2-1-10
⑨発明者 鈴木 信太郎	東京都大田区南千束3-7-10
⑩発明者 町田 治彦	鎌子市栄町2-2-2
⑪出願人 日本化薬株式会社	東京都千代田区丸の内1丁目2番1号
⑫出願人 ヤマサ醤油株式会社	鎌子市新生町2丁目10番地の1
⑬代理人 弁理士 竹田 和彦	

明細書

1. 発明の名前

ポリ(I CL)注射用製剤の新規調製法。

2. 専門請求の範囲

ポリリボイノシン酸・ポリリボシチデル酸に
ポリ-L-リジンを混合した後加熱処理すること
を特徴とするポリリボイノシン酸・ポリリボシチデル酸・
ポリ-L-リジンの複合体注射用製剤の
新規調製法。

3. 発明の詳細な説明

〔臨牀上の利用分野〕

本発明は、インターフェロン誘発物質のポリリ
ボイノシン酸・ポリリボシチデル酸・ポリ-L-リ
ジン複合体(以下ポリ(I CL)といふ。)の
注射用製剤を調製する新規な方法に関するもので
ある。

〔従来技術〕

ポリリボイノシン酸・ポリリボシチデル酸(以下
ポリ(I)・ポリ(C)といふ)はインターフ

エロン(以下I CLといふ)の誘発物質としてニ
く知られている。しかしながら、ポリ(I)・ポ
リ(C)はヒトなどの腫瘍細胞ではそのI CL誘発
活性が低いと報告されている。この原因は、腫瘍
細胞では血中のリボヌクレアーゼ活性が高く、ポリ
(I)・ポリ(C)が吸与された状態でこの酵
素によつて分解されるためであるといわれている。
ポリ(I)・ポリ(C)の複数分解酵素による代
謝を防止するために、いくつかのポリ(I)・ポ
リ(C)の癌細胞物質との複合体が開発されてき
た。ポリ(I CL)もその一つである。ポリ(I CL)
はヒトおよびサルで強力なI CL誘発活性
が報告されており、またI CLがいくつかの腫瘍
に対して抗腫瘍効果を示すことが報告されてい
ることから、ポリ(I CL)の創がん剤としての poss
ibilityも期待されよい。

ポリ(I CL)はポリスクリオナドとポリベガ
ナドの複合体でありポリスクリオナドとポリベガ
ナドの混合時、不溶性の沈殿を生じやすいため、
一定の温度で長時間をかけて混合する製造法が行わ

ボリ(C)と~~○~~水溶液とを搅拌混合した後室温でボリーエーリジン(以下ボリーエーリジンといふ)をゆっくり滴下し、24時間ゆっくり搅拌しながら放置し、次いで5%塩化ナトリウムを加え更に室温で1~2日搅拌放置する方法(Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 第169卷 183~188頁(1952))および室温で導電性のペヒクルを混合して透明な溶液を得る方法(特許昭56-53621号公報)等が知られている。

[発明が解決しようとする問題]

従来法ではボリ(ICL)の溶液を得るために数日間を要し、かつこれ等の方法を用いた結果得られる溶液は外観において不透明であつたり、外観において透明である場合でも成膜が可能な孔過のフィルターを用いてろ過することは不可能であるため、注射用製剤を製するにはボリ(I)・ボリ(C)の水溶液およびボリーエーリジン水溶液をそれぞれ途絶ろ過したのち、完全に無菌の環境

(I)およびボリ(C)は沈降定数が4.8~11.5のものが好ましく、通常ナトリウム塩の形で用いられる。

ボリ(I)・ボリ(C)溶液へのボリーエーリジンの混合は、ボリ(I)・ボリ(C)水溶液に粉末状のボリーエーリジンを直接混合するか、またはボリーエーリジンをあらかじめ水溶液とした後混合する。著者の場合、ボリーエーリジン水溶液は0.2%~2.0%の濃度の水溶液として混合するのが好ましい。

ボリ(I)・ボリ(C)とボリーエーリジンとの割合はボリ(I)・ボリ(C)のリン酸基とボリーエーリジンのアミノ基のモル比で1:0.3~1.0、好ましくは1:0.5~0.7である。

本発明で使用されるボリーエーリジンは通常臭化水素酸塩または塩酸塩の形で使用される。塩としての平均分子量は通常5,000~5,500好ましくは10,000~50,000。本発明における加热処理は通常搅拌下にボリ(ICL)の複数熱強解点以下約40~110℃で、好ましくは70~

80℃で行なう。本発明では、かかる欠点を有しないボリ(ICL)の注射用製剤の誕生を極めて期待した結果、意外にも、ボリ(I)・ボリ(C)の水溶液とボリーエーリジンの水溶液を混合した後加熱処理するならば、透明性の良好な、かつ成膜ろ過が可能なボリ(ICL)の注射用製剤が短時間で簡単に得られることを見出し、本発明を完成するに至つた。

本発明で使用するボリ(I)・ボリ(C)の水溶液は、ボリ(I)とボリ(C)のモル比が通常0.8~2モル:1好ましくは1:1となるようにボリ(I)とボリ(C)を注射用蒸留水に適量溶かすか、ボリ(I)の水溶液とボリ(C)の水溶液を混合するか、あらかじめ虹吸旋流等で調製されたボリ(I)・ボリ(C)を注射用蒸留水に溶かし、好ましくはその濃度が0.5~3.0%となるよう調製することにより得られる。

ボリ(I)・ボリ(C)水溶液に用いるボリ

90℃の恒温槽で行われ、加热時間は処理温度にもよるが通常40分~24時間、好ましくは10~60分間の範囲である。

本発明で得られるボリ(ICL)の水溶液は成膜剤または導電性剤例えば硫酸塩など(および)錯離を含んでもよく、これらを含む場合はボリ(I)・ボリ(C)とボリーエーリジンを混合した後、溶液に塩類または(および)錯離を加えるのが好ましい。この際、より透明性が高く、う過ぎの良い溶液を得るには、NaClなどの無機塩類ができるだけ少ないか又は加えないほうがよく、また導電性をはかる目的ではブドウ糖、マンニトールなど糖類を加える方が好ましい。

得られたボリ(ICL)水溶液を細胞化の処理を行う場合は常法に従つて行なうことができ、例えば液槽用のメンブランフィルターを用いてろ過(成膜ろ過)し、成膜した容器に密封するか、または密封した後80~100℃で24時間ごとに30~60分間加熱する(調大装置)ことによつて行われる。

る。

実験例 1

沈降定数 6.9 のポリ (I) と 9.8 のポリ (C) の母セルよりなる。ポリ (I) ・ ポリ (C) のナトリウム塩の濃縮乾燥物を注射用蒸留水に溶解し、ポリ (I) ・ ポリ (C) のナトリウム塩として 2.0 マノ/ml の水溶液となるように調製する。別に分子量 4,000 のポリーリジンの具化水素・酸塩を注射用蒸留水に溶解しポリーリジンの具化水素塩として 1.0 マノ/ml の水溶液となるように調製する。次に、ポリ (I) ・ ポリ (C) の水溶液とポリーリジンの水溶液を 5 : 3.7 の体積比で混合し搅拌する。調製したポリ (ICL) の水溶液を 80 度で 30 分間ゆっくり搅拌しながら加熱処理を行う。加熱処理後、0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過し、放置したガラス容器に密封し注射剤とする。

実験例 2

沈降定数 6.9 のポリ (I) と 9.8 のポリ (C)

リウム塩の濃縮乾燥物を注射用蒸留水に溶解し、ポリ (I) ・ ポリ (C) のナトリウム塩として 2.0 マノ/ml の水溶液となるように調製する。別に、分子量 3,200 のポリーリジンの具化水素・酸塩を注射用蒸留水に溶解しポリーリジンの具化水素塩として 1.0 マノ/ml の水溶液となるように調製する。ポリ (I) ・ ポリ (C) 水溶液とポリーリジン水溶液を 5 : 4 の体積比で混合し、ポリ (I) ・ ポリ (C) とポリーリジンのモル比が 1 : 0.65 のポリ (ICL) 水溶液となるように調製する。調製した水溶液を 90 度で 30 分間、加熱処理し、30 度に加熱下 0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過する。ろ過液を放置したガラス容器に密封し注射剤とする。

〔効 果〕

下記試験例から明らかのように、本発明で得られるポリ (ICL) は蛋白性及びろ過性とともによく、リボスクレアーゼ (RNase) 過濾性は加熱処理前のものとほとんど変わらないものであることが判る。

ポリ (I) ・ ポリ (C) のナトリウム塩として 2.0 マノ/ml の水溶液となるように調製する。別に、分子量 3,200 のポリーリジンの具化水素・酸塩を注射用蒸留水に溶解し、ポリーリジンの具化水素塩として 1.0 マノ/ml の水溶液となるように調製する。次に、ポリ (I) ・ ポリ (C) の水溶液とポリーリジンの水溶液を 5 : 4 の体積比で混合し、ポリ (I) ・ ポリ (C) とポリーリジンのモル比が 1 : 0.65 のポリ (ICL) 水溶液となるように調製する。更に、このポリ (ICL) 水溶液に 1 モル化ナトリウム水溶液を 9 : 1 の体積比で攪拌混合する。調製したポリ (ICL) の水溶液を 80 度で 30 分間、加熱処理を行う。加熱処理後、0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過し、放置したガラス容器に密封し注射剤とする。

実験例 3

沈降定数 6.9 のポリ (I) と 9.8 のポリ (C) の母セルよりなるポリ (I) ・ ポリ (C) のナト

試験例 1 本発明で得られるポリ (ICL) の分子量分布の測定

本発明の実験例 1 で得られたポリ (ICL) の分子量分布を重畠密度勾配遠心法により測定した。また対照として実験例 1 において加熱処理する前のポリ (ICL) の分子量分布を同様に測定した。その結果を第 1 図および第 2 図に示す。

試験例 2 本発明で得られるポリ (ICL) の蛋白性、ろ過性、およびリボスクレアーゼ (RNase) 過濾性の測定

(1) 蛋白性：沈没 4,200 rpm における沈没率 (%) を第 1 表に示した。

(2) ろ過性：孔径 0.45 ミクロンのメンブランフィルターでろ過したときの含水量の回収率 (%) を第 1 表に示した。

(3) RNase 過濾性：

ポリ (ICL) 混成にリン酸緩衝生理食塩水を加え、ポリ (I) ・ ポリ (C) の濃度にして 3.0 mg/ml となるように調製した。この試験液：9.9 ml をとり、牛脳筋スクリアーゼ

い248 nmにおける吸光度(OD₂₄₈)が上昇するので、反応前後の反応液のOD₂₄₈を測定し、反応後のOD₂₄₈の増加率(%)を算出してRyasee透流性を示した。

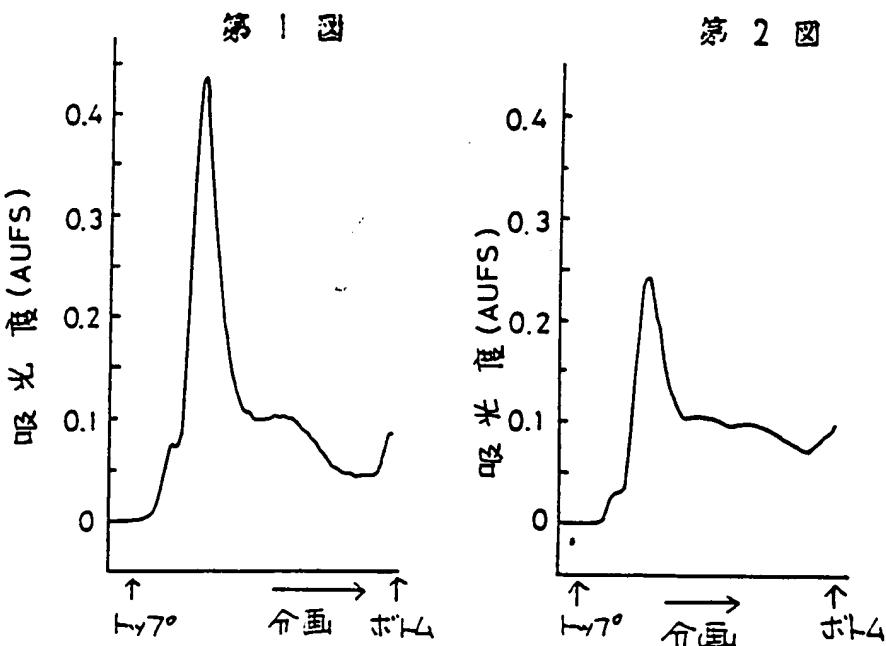
本対照として、ポリ(I)・ポリ(C)の水溶液(実験例1で使用したもの：2 mg/ml濃度)および実験例1でポリ(I)・ポリ(C)水溶液とポリーリジン水溶液を混合して得られた加熱処理前のポリ(ICL)について上記と同様に透明性、ろ過性およびRyasee透流性を測定し、その結果を表1に示した。

試	透明性 (%)	透過性 (回収率 %)	透流性 (OD ₂₄₈ 増加率%)
本免 明例1	99.5	97.1	9.9
本免 明例2	99.1	95.1	9.4
本免 明例3	99.1	99.6	9.1
対照1 (ポリ(I)・ポリ(C))	99.7	99.9	63.8
対照2 (加熱処理前)	96.5	62.4	- 9.6

4. 図面の簡単な説明

第1図および第2図は疎導密度勾配遠心法による分子量分布を示す。第1図は80℃30分間の加熱処理後のポリ(ICL)(本免明方法によるもの)であり、第2図は加熱処理前のポリ(ICL)である。

特許出願人 日本化成株式会社
ヤマナ石油株式会社



特許法

1. 事件の表示
昭和59年特許出願226038号
2. 発明の名称
ポリリボンテル膜・ポリーレーリジン複合体の生財用製剤の新規性調査法
3. 誤正をする
事件との關係 特許出願人
東京都千代田区富士見一丁目11番2号
(408) 日本化薬株式会社
代表者 取締役社長 松野 実和
千葉県船橋市新生町2丁目10番地の1
ヤマア薬品株式会社
代表者 岩口 道雄
4. 代理人
東京都千代田区富士見一丁目11番2号
日本化薬株式会社内
(4126) 弁理士 竹田 和多
5. 誤正命令の日付
昭和60年2月6日
6. 誤正により増加する発明の数
なし
7. 誤正の対象
既存の発明の名称の組み上げ明細書所載発明の名称の組
8. 誤正の内容
別紙の通り

方
式
審
査

1. 特許出願の名称「ポリ(エチレン)生財用製剤の新規性調査法」を「ポリリボンテル膜・ポリーレーリジン複合体の生財用製剤の新規性調査法」と訂正する。
2. 明細書等に属する発明の名称「ポリ(エチレン)生財用製剤の新規性調査法」を「ポリリボンテル膜・ポリーレーリジン複合体の生財用製剤の新規性調査法」と訂正する。